

Abstract of DE19612194

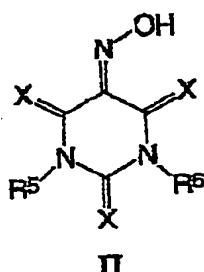
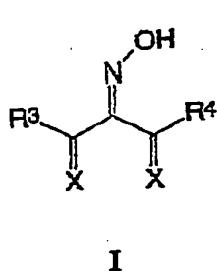
This invention concerns a multicomponent system for changing, degrading or bleaching lignin, lignin-containing materials or similar substances and processes for its use, containing a) optionally, at least one oxidation catalyst and b) at least one suitable oxidant and c) at least one mediator, characterized by the fact that the mediator is selected from the oximes of general formula (I) or (II) and their salts, ethers, or esters, where the groups X are the same or different and are O, S, or NR<1>, where R<1> means hydrogen, a hydroxy, formyl, carbamoyl or sulfono radical, an ester or salt of the sulfono radical, sulfamoyl, nitro, amino, phenyl, aryl-C1-C5-alkyl, C1-C12-alkyl, C1-C5-alkoxy, C1-C10-carbonyl, carbonyl-C1-C6-alkyl, a phospho, phosphono, or phosphonooxy radical, an ester or salt of the phosphonooxy radical where carbamoyl, sulfamoyl, amino and phenyl radicals can be unsubstituted or substituted one or several times with radical R<2> and the aryl-C1-C5alkyl, C1-C12-alkyl, C1-C5-alkoxy, C1-C10-carbonyl, carbonyl-C1-C6-alkyl radicals can be saturated or unsaturated, branched or unbranched, and can be substituted one or several times with a radical R<2>, where the radicals R<2> are the same or different and means a hydroxy, formyl or carboxy radical, an ester or salt of the carboxy radical, a carbamoyl or sulfono radical, an ester or salt of the sulfono radical, a sulfamoyl, nitro, amino, phenyl, C1-C5-alkyl or C1-C5-alcoxy radical and the radicals R<3>-R<4> are the same or different and signify a halogen or carboxy radical, an ester or salt of the carboxy radical, or they have the meanings given for R<1>, R<3> and R<4> being optionally linked to a ring [-CR<7>R<8>]_n, where n = 1, 2, 3, or 4, and R<5> and R<6> have the meanings given for R<1>, and R<7> and R<8> have the meanings given for R<3> and R<4>.

(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLANDDEUTSCHES
PATENTAMT(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 196 12 194 A 1(51) Int. Cl. 6:
D 21 C 9/147
D 21 C 3/22
// B01J 31/02, C12N
9/02

DE 196 12 194 A 1

(21) Aktenzeichen: 196 12 194.9
(22) Anmeldetag: 27. 3. 96
(23) Offenlegungstag: 2. 10. 97(71) Anmelder:
Consortium für elektrochemische Industrie GmbH,
81379 München, DE(74) Vertreter:
Franke, E., Dr., 81737 München(72) Erfinder:
Call, Hans-Peter, Dr.rer.nat., 52551 Übach-Palenberg,
DE

(54) Mehrkomponentensystem zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen sowie Verfahren zu seiner Anwendung

(55) Mehrkomponentensystem zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen, enthaltend
a. ggf. mindestens einen Oxidationskatalysator und
b. mindestens ein geeignetes Oxidationsmittel und
c. mindestens einen Mediator, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediator ausgewählt ist aus der Gruppe der Oxime der allgemeinen Formel I oder II

sowie deren Salze, Ether, oder Ester, wobei
X gleich oder verschieden ist und O, S, oder NR¹ bedeuten,
wobei
R¹ Wasserstoff-, Hydroxy-, Formyl-, Carbamoyl-, Sulfonorest, Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, Aryl-C₁-C₅-alkyl-, C₁-C₁₂-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁-C₆-alkyl-Reste gesättigt oder ungesättigt, verzweigt oder unverzweigt sein können und mit einem Rest R² ein- oder mehrfach substituiert sein können, wobei

Phosphono-, Phosphonoxyrest, Ester oder Salz des Phosphonoxyrests bedeutet, wobei Carbamoyl-, Sulfamoyl-, Amino- und Phenylreste unsubstituiert oder ein- oder mehrfach mit einem Rest R² substituiert sein können und die Aryl-C₁-C₅-alkyl-, C₁-C₁₂-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁-C₆-alkyl-Reste gesättigt oder ungesättigt, verzweigt oder unverzweigt sein können und mit einem Rest R² ein- oder mehrfach substituiert sein können, wobei R² gleich oder verschieden ist und Hydroxy-, Formyl-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests, Carbamoyl-, Sulfono-Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, C₁-C₅-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxyrest bedeutet und die ...

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 08. 97 702 040/256

Beschreibung

- Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mehrkomponentensystem zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen sowie Verfahren zu seiner Anwendung.
- Als heute hauptsächlich zur Zellstoffherstellung verwendete Verfahren sind das Sulfat- und das Sulfitverfahren zu nennen. Mit beiden Verfahren wird unter Kochung und unter Druck Zellstoff erzeugt. Das Sulfat-Verfahren arbeitet unter Zusatz von NaOH und Na₂S, während im Sulfit-Verfahren Ca(HSO₃)₂ + SO₂ zur Anwendung kommt.
- Alle Verfahren haben als Hauptziel die Entfernung des Lignins aus dem verwendeten Pflanzenmaterial, Holz oder Einjahrespflanzen.
- Das Lignin, das mit der Cellulose und der Hemicellulose den Hauptbestandteil des Pflanzenmaterials (Stiel oder Stamm) ausmacht, muß entfernt werden, da es sonst nicht möglich ist, nicht vergilbende und mechanisch hochbelastbare Papiere herzustellen.
- Die Holzstofferzeugungsverfahren arbeiten mit Steinschleifern (Holzschliff) oder mit Refinern (TMP), die das Holz nach entsprechender Vorbehandlung (chemisch, thermisch oder chemisch-thermisch) durch Mahlen defibrillieren.
- Diese Holzstoffe besitzen noch einen Großteil des Lignins. Sie werden v. a. für die Herstellung von Zeitungen, Illustrierten, etc. verwendet.
- Seit einigen Jahren werden die Möglichkeiten des Einsatzes von Enzymen für den Ligninabbau erforscht. Der Wirkmechanismus derartiger lignolytischer Systeme ist erst vor wenigen Jahren aufgeklärt worden, als es gelang, durch geeignete Anzuchtbedingungen und Induktionszusätze bei dem Weißfäulepilz Phanerochaete chrysosporium zu ausreichenden Enzymmengen zu kommen. Hierbei wurden die bis dahin unbekannten Ligninperoxidases und Manganperoxidases entdeckt. Da Phanerochaete chrysosporium ein sehr effektiver Ligninabbauer ist, versuchte man dessen Enzyme zu isolieren und in gereinigter Form für den Ligninabbau zu verwenden. Dies gelang jedoch nicht, da sich herausstellte, daß die Enzyme vor allem zu einer Repolymerisation des Lignins und nicht zu dessen Abbau führen.
- Ähnliches gilt auch für andere lignolytische Enzymspezies wie Laccasen, die das Lignin mit Hilfe von Sauerstoff anstelle von Wasserstoffperoxid oxidativ abbauen. Es konnte festgestellt werden, daß es in allen Fällen zu ähnlichen Prozessen kommt. Es werden nämlich Radikale gebildet, die wieder selbst miteinander reagieren und somit zur Polymerisation führen.
- So gibt es heute nur Verfahren, die mit in-vivo Systemen arbeiten (Pilzsysteme). Hauptschwerpunkte von Optimierungsversuchen sind das sogenannte Biopulping und das Biobleaching.
- Unter Biopulping versteht man die Behandlung von Holzhackschnitzeln mit lebenden Pilzsystemen. Es gibt 2 Arten von Applikationsformen:
1. Vorbehandlung von Hackschnitzeln vor dem Refinern oder Mahlen zum Einsparen von Energie bei der Herstellung von Holzstoffen (z. B. TMP oder Holzschliff).
 2. Vorbehandlung von Hackschnitzeln (Softwood/Hardwood) vor der Zellstoffkochung (Kraftprozeß, Sulfitprozeß).
- Ein weiterer Vorteil ist die meist vorhandene Verbesserung der mechanischen Eigenschaften des Stoffes, ein Nachteil die schlechtere Endweiße.
- Hier ist das Ziel, die Reduzierung von Kochchemikalien, die Verbesserung der Kochkapazität und "extended cooking".
- Als Vorteile werden auch eine verbesserte Kappareduzierung nach dem Kochen im Vergleich zu einem Kochen ohne Vorbehandlung erreicht.
- Nachteile dieser Verfahren sind eindeutig die langen Behandlungszeiten (mehrere Wochen) und v.a. die nicht gelöste Kontaminierungsgefahr während der Behandlung, wenn man auf die wohl unwirtschaftliche Sterilisation der Hackschnitzel verzichten will.
- Das Biobleaching arbeitet ebenfalls mit in-vivo Systemen. Der gekochte Zellstoff (Softwood/Hardwood) wird vor der Bleiche mit Pilz beimpft und für Tage bis Wochen behandelt. Nur nach dieser langen Behandlungszeit zeigt sich eine signifikante Kappazahlniedrigung und Weißsteigerung, was den Prozeß unwirtschaftlich für eine Implementierung in den gängigen Bleichsequenzen macht.
- Eine weitere meist mit immobilisierten Pilzsystemen durchgeführte Applikation ist die Behandlung von Zellstoffabrikationsabwässern, insbesondere Bleichereiabwässern zu deren Entfärbung und Reduzierung des AOX (Reduzierung von chlorierten Verbindungen im Abwasser, die Chlor- oder Chlordioxid-Bleichstufen verursachen).
- Darüber hinaus ist bekannt, Hemicellulasen u. a. Xylanasen, Mannanasen als "Bleichbooster" einzusetzen.
- Diese Enzyme sollen hauptsächlich gegen das nach dem Kochprozeß das Restlignin zum Teil überdeckende reprecipierte Xylan wirken und durch dessen Abbau die Zugänglichkeit des Lignins für die in den nachfolgenden Bleichsequenzen angewendeten Bleichchemikalien (v.a. Chlordioxyd) erhöhen. Die im Labor nachgewiesenen Einsparungen von Bleichchemikalien wurden in großem Maßstab nur bedingt bestätigt, so daß man diesen Enzymtyp allenfalls als Bleichadditiv einstufen kann.
- Als Cofaktor neben den lignolytischen Enzymen nimmt man Chelatsubstanzen (Siderophoren, wie Ammoniumoxalat) und Biotenside an.
- In der Anmeldung PCT/EP87/00635 wird ein System zur Entfernung von Lignin aus lignincellulosehaltigem

DE 196 12 194 A1

Material unter gleichzeitiger Bleiche beschrieben, welches mit lignolytischen Enzymen aus Weißfäulepilzen unter Zusatz von Reduktions- und Oxidationsmitteln und phenolischen Verbindungen als Mediatoren arbeitet.

In der DE 40 08 893C2 werden zusätzlich zu Red/Ox-System "Mimic Substanzen", die das aktive Zentrum (prosthetische Gruppe) von lignolytischen Enzymen simulieren, zugesetzt. So konnte eine erhebliche Performanceverbesserung erzielt werden.

In der Anmeldung PCT/EP92/01086 wird als zusätzliche Verbesserung eine Redoxkaskade mit Hilfe von im Oxidationspotential "abgestimmten" phenolischen oder nichtphenolischen Aromaten eingesetzt.

Bei allen drei Verfahren ist die Limitierung für einen großtechnischen Einsatz die Anwendbarkeit bei geringen Stoffdichten (bis maximal 4%) und bei den beiden letzten Anmeldungen die Gefahr des "Ausleachens" von Metallen beim Einsatz der Chelatverbindungen, die v.a. bei nachgeschalteten Peroxidbleichstufen zur Zerstörung des Peroxids führen können.

Aus WO/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität von Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert werden.

Die Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12619 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel $A=N-N=B$ charakterisiert, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindest einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen "dye transfer inhibition" und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergent-Additiv oder Detergent-Zusammensetzung im Waschmittelbereich. Zwar wird in der Beschreibung der Anmeldung auf eine Verwendbarkeit zum Behandeln von Lignin verwiesen, aber eigene Versuche mit den in den Anmeldungen konkret offenbarten Substanzen zeigten, daß sie als Mediatoren zur Steigerung der Bleichwirkung der Peroxidasen beim Behandeln von ligninhaltigen Materialien keine Wirkung zeigten!

WO 94/29510 beschreibt ein Verfahren zur enzymatischen Delignifizierung, bei dem Enzyme zusammen mit Mediatoren eingesetzt werden. Als Mediatoren werden allgemein Verbindungen mit der Struktur $NO-$, $NOH-$ oder $HRNOH$ offenbart.

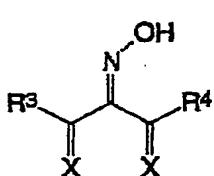
Von den in WO 94/29510 offenbarten Mediatoren liefert 1-Hydroxy-1H-benzotriazole (HBT) die besten Ergebnisse in der Delignifizierung. HBT hat jedoch verschiedene Nachteile:
Es ist nur zu hohen Preisen und nicht in hinreichenden Mengen verfügbar.

Es reagiert unter Delignifizierungsbedingungen zu 1H-Benzotriazol. Diese Verbindung ist relativ schlecht abbaubar und kann in größeren Mengen eine beträchtliche Umweltbelastung darstellen.

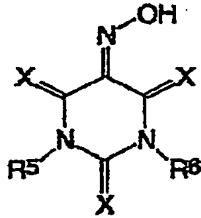
Es führt in gewissem Umfang zu einer Schädigung von Enzymen. Seine Delignifizierungsgeschwindigkeit ist nicht allzu hoch.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mehrkomponentensystem zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen enthaltend

- a. ggf. mindestens einen Oxidationskatalysator und
- b. mindestens ein geeignetes Oxidationsmittel und
- c. mindestens einen Mediator, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediator ausgewählt ist aus der Gruppe der Oxime der allgemeinen Formel I oder II



I



II

sowie deren Salze, Ether, oder Ester, wobei

X, gleich oder verschieden ist und O, S, oder NR¹ bedeuten wobei

R¹ Wasserstoff-, Hydroxy-, Formyl-, Carbamoyl-, Sulfonorest, Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, Aryl-C₁-C₅-alkyl-, C₁-C₁₂-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁-C₅-alkyl-, Phospho-, Phosphono-, Phosphonoxyrest, Ester oder Salz des Phosphonoxyrests bedeutet, wobei Carbamoyl-, Sulfamoyl-, Amino- und Phenylreste unsubstituiert oder ein- oder mehrfach mit einem Rest R² substituiert sein können und die Aryl-C₁-C₅-alkyl-, C₁-C₁₂-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁-C₅-alkyl-Reste gesättigt oder ungesättigt, verzweigt oder unverzweigt sein können und mit einem Rest R² ein- oder mehrfach substituiert sein können, wobei

R² gleich oder verschieden ist und Hydroxy-, Formyl-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests, Carbamoyl-, Sulfono-Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, C₁-C₅-Alkyl-, C₁-C₅-Alkoxyrest bedeutet und

DE 196 12 194 A1

die Reste R³ und R⁴ gleich oder verschieden sind und Halogen-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests bedeuten, oder die für R¹ genannten Bedeutungen haben, oder zu einem Ring [—CR' R⁸]_n mit n gleich 2, 3 oder 4 verknüpft sind und R⁵ und R⁶ die für R¹ genannten Bedeutungen haben und R⁷ und R⁸ gleich oder verschieden sind und Halogen-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests bedeuten, oder die für R¹ genannten Bedeutungen haben.

5 Als Mediatoren im erfundungsgemäßen Mehrkomponentensystem besonders bevorzugt sind Verbindungen mit der allgemeinen Formel I bei denen X Q oder S bedeutet und die übrigen Reste die vorstehend genannten Bedeutungen haben. Ein Beispiel für eine solche Verbindung ist 2-Hydroxyiminomalonsäuredimethylester.

10 Als Mediatoren weiterhin besonders bevorzugt sind Isonitrosoderivate von cyclischen Ureiden der allgemeinen Formel II. Beispiele für solche Verbindungen sind 1-Methylviolursäure, 1,3-Dimethylviolursäure, Thioviolursäure, Alloxan-4,5-dioxin.

Als Mediator insbesondere bevorzugt ist Alloxan-5-oxim Hydrat (Viblursäure) und/oder dessen Ester, Ether oder Salze.

15 Das erfundungsgemäße Mehrkomponentensystem enthält Mediatoren, die kostengünstiger als HBT sind. Darüber hinaus wird bei Einsatz der erfundungsgemäßen Mediatoren eine Steigerung der Delignifizierungs geschwindigkeit erzielt.

Vorzugsweise umfaßt das erfundungsgemäße Mehrkomponentensystem mindestens einen Oxidationskataly sator.

20 Als Oxidationskatalysatoren werden im erfundungsgemäßen Mehrkomponentensystem bevorzugt Enzyme eingesetzt. Im Sinne der Erfindung umfaßt der Begriff Enzym auch enzymatisch aktive Proteine oder Peptide oder prosthetische Gruppen von Enzymen.

Als Enzym können im erfundungsgemäßen Mehrkomponentensystem Oxidoreduktasen der Klassen 1.1.1 bis 1.97 gemäß Internationaler Enzym-Nomenklatur, Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Enzyme Nomenclature, Academic Press, Inc, 1992, S. 24—154) eingesetzt werden.

25 Vorzugsweise werden Enzyme der im folgenden genannten Klassen eingesetzt:
Enzyme der Klasse 1.1, die alle Dehydrogenasen, die auf primäre, sekundäre Alkohole und Semiacetale wirken, umfassen und die als Akzeptoren NAD⁺ oder NADP⁺ (Subklasse 1.1.1), Cytochrome (1.1.2), Sauerstoff (O₂) (1.1.3), Disulfide (1.1.4), Chinone (1.1.5) oder die andere Akzeptoren haben (1.1.99).

Aus dieser Klasse sind besonders bevorzugt die Enzyme der Klasse 1.1.5 mit Chinonen als Akzeptoren und die 30 Enzyme der Klasse 1.1.3 mit Sauerstoff als Akzeptor.

Insbesondere bevorzugt in dieser Klasse ist Cellobiose:
quinone-1-oxidoreduktase (1.1.5.1).

Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.2. Diese Enzymklasse (1.1.5.1) umfaßt solche Enzyme, die 35 Aldehyde zu den korrespondierenden Säuren oder Oxo-Gruppen oxidieren. Die Akzeptoren können NAD⁺, NADP⁺ (1.2.1), Cytochrome (1.2.2), Sauerstoff (1.2.3), Sulfide (1.2.4), Eisen-Schweiß-Proteine (1.2.5) oder andere Akzeptoren (1.2.99) sein.

Besonders bevorzugt sind hier die Enzyme der Gruppe (1.2.3) mit Sauerstoff als Akzeptor.
Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.3. In dieser Klasse sind Enzyme zusammengefaßt, die auf CH—CH-Gruppen des Donors wirken.

40 Die entsprechenden Akzeptoren sind NAD⁺, NADP⁺ (1.3.1), Cytochrome (1.3.2), Sauerstoff (1.3.3), Chinone oder verwandte Verbindungen (1.3.5), Eisen-Schweiß-Proteine (1.3.7) oder andere Akzeptoren (1.3.99).

Besonders bevorzugt ist die Bilirubinoxidase (1.3.3.5).
Hier sind ebenfalls die Enzyme der Klasse (1.3.3) mit Sauerstoff als Akzeptor und (1.3.5) mit Chinone etc. als 45 Akzeptor besonders bevorzugt.

Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.4, die auf CH—NH₂-Gruppen des Donors wirken.
Die entsprechenden Akzeptoren sind NAD⁺, NADP⁺ (1.4.1), Cytochrome (1.4.2), Sauerstoff (1.4.3), Disulfide (1.4.4), Eisen-Schweiß-Proteine (1.4.7) oder andere Akzeptoren (1.4.99).

Besonders bevorzugt sind auch hier Enzyme der Klasse 1.4.3 mit Sauerstoff als Akzeptor.
Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.5, die auf CH—NH-Gruppen des Donors wirken. Die entspre chenden Akzeptoren sind NAD⁺, NADP⁺ (1.5.1), Sauerstoff (1.5.3), Disulfide (1.5.4), Chinone (1.5.5) oder andere 50 Akzeptoren (1.5.99).

Auch hier sind besonders bevorzugt Enzyme mit Sauerstoff (O₂) (1.5.3) und mit Chinonen (1.5.5) als Akzepto ren.

Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.6, die auf NADH oder NADPH wirken.
Die Akzeptoren sind hier NADP⁺ (1.6.1), Hämproteine (1.6.2), Disulfide (1.6.4), Chinone (1.6.5), NO₂-Gruppen (1.6.6), und ein Flavin (1.6.8) oder einige andere Akzeptoren (1.6.99).

Besonders bevorzugt sind hier Enzyme der Klasse 1.6.5 mit Chinonen als Akzeptoren.
Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.7, die auf andere NO₂-Verbindungen als Donatoren wirken und als Akzeptoren Cytochrome (1.7.2), Sauerstoff (O₂) (1.7.3), Eisen-Schweiß-Proteine (1.7.7) oder andere 60 (1.7.99) haben.

Hier sind besonders bevorzugt die Klasse 1.7.3 mit Sauerstoff als Akzeptor.
Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.8, die auf Schwefelgruppen als Donatoren wirken und als Akzeptoren NAD⁺, NADP⁺ (1.8.1), Cytochrome (1.8.2), Sauerstoff (O₂) (1.8.3), Disulfide (1.8.4), Chinone (1.8.5), Eisen-Schweiß-Proteine (1.8.7) oder andere (1.8.99) haben.

65 Besonders bevorzugt ist die Klasse 1.8.3 mit Sauerstoff (O₂) und (1.8.5) mit Chinonen als Akzeptoren.
Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.9, die auf Hämgruppen als Donatoren wirken und als Akzeptoren Sauerstoff (O₂) (1.9.3), NO₂-Verbindungen (1.9.6) und andere (1.9.99) haben.

Besonders bevorzugt ist hier die Gruppe 1.9.3 mit Sauerstoff (O₂) als Akzeptor (Cytochromoxidasen).

DE 196 12 194 A1

Weiterhin bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.12, die auf Wasserstoff als Donor wirken.

Die Akzeptoren sind NAD⁺ oder NADP⁺ (1.12.1) oder andere (1.12.99).

Desweiteren bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.13 und 1.14 (Oxigenasen).

Weiterhin sind bevorzugte Enzyme die der Klasse 1.15, die auf Superoxid-Radikale als Akzeptoren wirken.

Besonders bevorzugt ist hier die Superoxid-Dismutase (1.15.1.1).

Weiterhin sind bevorzugt Enzyme der Klasse 1.16.

Als Akzeptoren wirken NAD⁺ oder NADP⁺ (1.16.1) oder Sauerstoff (O₂) (1.16.3).

Besonders bevorzugt sind hier Enzyme der Klasse 1.16.3.1 (Ferroxidase, z. B. Ceruloplasmin).

Weiterhin bevorzugte Enzyme sind diejenigen, die der Gruppe 1.17 (Wirkung auf CH₂-Gruppen, die zu -CHOH – oxidiert werden), 1.18 (Wirkung auf reduziertes Ferredoxin als Donor), 1.19 (Wirkung auf reduziertes Flavodoxin als Donor) und 1.97 (andere Oxidoreduktasen) angehören.

Weiterhin besonders bevorzugt sind die Enzyme der Gruppe 1.11, die auf ein Peroxid als Akzeptor wirken. Diese einzige Subklasse (1.11.1) enthält die Peroxidasen.

Besonders bevorzugt sind hier die Cytochrom-C-Peroxidasen (1.11.1.5), Catalase (1.11.1.6), die Peroxydase (1.11.1.6), die Iodid-Peroxidase (1.11.1.8), die Glutathione-Peroxidase (1.11.1.9), die Chlorid-Peroxidase (1.11.1.10), die L-Ascorbat-Peroxidase (1.11.1.11), die Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathione-Peroxidase (1.11.1.12), die Mangan-Peroxidase (1.12.1.13), die Diarylpropan-Peroxidase (Ligninase, Lignin-Peroxidase) (1.11.1.14).

Ganz besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse 1.10, die auf Biphenole und verwandten Verbindungen wirken. Sie katalysieren die Oxidation von Biphenolen und Ascorbaten. Als Akzeptoren fungieren NAD⁺, NADP⁺ (1.10.1), Cytochrome (1.10.2), Sauerstoff (1.10.3) oder andere (1.10.99).

Von diesen wiederum sind Enzyme der Klasse 1.10.3 mit Sauerstoff (O₂) als Akzeptor besonders bevorzugt.

Von den Enzymen dieser Klasse sind die Enzyme Catechol Oxidase (Tyrosinase) (1.10.3.1), L-Ascorbate Oxidase (1.10.3.3), o-A-minophenol Oxidase (1.10.3.4) und Laccase (Benzoldiol: Oxigen Oxidoreduktase) (1.10.3.2) bevorzugt, wobei die Laccasen (Benzoldiol: Oxigen Oxidoreduktase) (1.10.3.2) insbesondere bevorzugt sind.

Die genannten Enzyme sind käuflich erhältlich oder lassen sich nach Standardverfahren gewinnen. Als Organismen zur Produktion der Enzyme kommen beispielsweise Pflanzen, tierische Zellen, Bakterien und Pilze in Betracht. Grundsätzlich können sowohl natürlich vorkommende als auch gentechnisch veränderte Organismen Enzymproduzenten sein. Ebenso sind Teile von einzelligen oder mehrzelligen Organismen als Enzymproduzenten denkbar, vor allem Zellkulturen.

Für die insbesondere bevorzugten Enzyme, wie die aus der Gruppe 1.11.1 vor allem aber 1.10.3 und insbesondere zur Produktion von Laccasen werden beispielsweise Weißfäulepilze wie Pleurotus, Phlebia und Trametes verwendet.

Das erfindungsgemäße Mehrkomponentensystem umfaßt mindestens ein Oxidationsmittel. Als Oxidationsmittel können beispielsweise Luft, Sauerstoff, Ozon, H₂O₂, organische Peroxide, Persäuren wie die Peressigsäure, Perameisensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxybenzosäure, Perchlorsäure, Perborate, Peracetate, Persulfate, Peroxide oder Sauerstoffspezies und deren Radikale wie OH[·], OOH[·], Singulettssauerstoff, Superoxid (O₂^{·-}), Ozonid, Dioxygenyl-Kation (O₂⁺), Dioxirane, Dioxetane oder Fremy Radikale eingesetzt werden.

Vorzugsweise werden solche Oxidationsmittel eingesetzt, die entweder durch die entsprechenden Oxidoreduktasen generiert werden können z. B. Dioxirane aus Laccasen plus Carbonylen oder die chemisch den Mediator regenerieren können oder diesen direkt umsetzen können.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung von Substanzen, welche erfindungsgemäß als Mediatoren geeignet sind zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen.

Die Wirksamkeit des Mehrkomponentensystems beim Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen ist häufig nochmals gesteigert, wenn neben den genannten Bestandteilen noch Mg²⁺ Ionen vorhanden sind.

Die Mg²⁺ Ionen können beispielsweise als Salz, wie z. B. MgSO₄, eingesetzt werden. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,1 – 2 mg/g ligninhaltigem Material vorzugsweise bei 0,2 – 0,6 mg/g.

In manchen Fällen läßt sich eine weitere Steigerung der Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Mehrkomponentensystems dadurch erreichen, daß das Mehrkomponentensystem neben den Mg²⁺ Ionen auch Komplexbildner wie z. B. Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Hydroxyethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure (DTMPA), Nitrolotriessigsäure (NTA), Polyphosphorsäure (PPA) etc. enthält. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,2 – 5 mg/g ligninhaltigem Material, vorzugsweise bei 1 – 3 mg.

Der Einsatz des erfindungsgemäßen Mehrkomponentensystems in einem Verfahren zum Behandeln von Lignin erfolgt beispielsweise dadurch, daß man die jeweils ausgewählten Komponenten a) bis c) gemäß Anspruch 1 gleichzeitig oder in beliebiger Reihenfolge mit einer wässrigen Suspension des ligninhaltigen Materials mischt.

Vorzugsweise wird ein Verfahren unter Einsatz des erfindungsgemäßen Mehrkomponentensystems in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis 10 bar und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 – 95°C, und einer Stoffdichte von 0,5 bis 40% durchgeführt.

Ein für den Einsatz von Enzymen bei der Zellstoffbleiche ungewöhnlicher und überraschender Befund ist, daß beim Einsatz des erfindungsgemäßen Mehrkomponentensystems eine Steigerung der Stoffdichte eine erhebliche Steigerung der Kappaerniedrigung ermöglicht.

Aus ökonomischen Gründen bevorzugt wird ein erfindungsgemäßes Verfahren bei Stoffdichten von 8 bis 35%, besonders bevorzugt 9 bis 15% durchgeführt.

Überraschenderweise zeigte sich ferner, daß eine saure Wäsche (pH 2 bis 6, vorzugsweise 4 bis 5) oder Q-Stufe (pH-Wert 2 bis 6, vorzugsweise 4 bis 5) vor der Enzym-Mediatorstufe bei manchen Zellstoffen zu einer

erheblichen Kappazahlniedrigung im Vergleich zur Behandlung ohne diese spezielle Vorbehandlung führt. In der Q-Stufe werden als Chelatbildner die zu diesem Zwecke üblichen Substanzen (wie z. B. EDTA, DTPA) eingesetzt. Sie werden vorzugsweise in Konzentrationen von 0,1%/t bis 1%/t besonders bevorzugt 0,1%/t bis 0,5%/t eingesetzt.

5 Im erfundungsgemäßen Verfahren werden vorzugsweise 0,01 bis 10.000 IU Enzym pro g ligninhaltiges Material eingesetzt. Besonders bevorzugt werden 0,1 bis 100 insbesondere bevorzugt werden 1 bis 40 IU Enzym pro g ligninhaltiges Material eingesetzt (1 U entspricht dem Umsatz von 1 µmol 2,2'-Azino-bis-(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfosäure-diammoniumsalz) (ABTS) /min/ml Enzym).

10 Im erfundungsgemäßen Verfahren werden vorzugsweise 0,01 mg bis 100 mg Oxidationsmittel pro g ligninhaltigem Material eingesetzt. Besonders bevorzugt werden 0,01 bis 50 mg Oxidationsmittel pro g ligninhaltigem Material eingesetzt.

15 Im erfundungsgemäßen Verfahren werden vorzugsweise 0,5 bis 80 mg Mediator pro g ligninhaltigem Material eingesetzt. Besonders bevorzugt werden 0,5 bis 40 mg Mediator pro g ligninhaltigem Material eingesetzt.

Gleichzeitig können Reduktionsmittel zugegeben werden, die zusammen mit den vorhandenen Oxidationsmitteln zur Einstellung eines bestimmten Redoxpotentials dienen.

20 Als Reduktionsmittel können Natrium-Bisulfit, Natrium-Dithionit, Ascorbinsäure, Thioverbindungen, Mercaptoverbindungen oder Glutathion etc. eingesetzt werden.

Die Reaktion läuft beispielsweise bei Laccase unter Luft- oder Sauerstoffzufuhr oder Sauerstoff- bzw. Luft-

25 Überdruck ab, bei den Peroxidasen (z. B. Ligninperoxidases, Manganperoxidases) mit Wasserstoffperoxid ab. Dabei können beispielsweise der Sauerstoff auch durch Wasserstoffperoxid + Katalase und Wasserstoffperoxid durch Glucose + Glucoseoxidase oder andere Systeme in situ generiert werden.

Außerdem können dem System Radikalbildner oder Radikalfänger (Abfangen von beispielsweise OH oder OOH Radikalen) zugesetzt werden. Diese können das Zusammenspiel innerhalb der Red/Ox- und Radikalmediatoren verbessern.

30 Der Reaktionslösung können auch weitere Metallsalze zugegeben werden.

Diese sind im Zusammenwirken mit Chelatbildnern als Radikalbildner oder Red/Ox-Zentren wichtig. Die Salze bilden in der Reaktionslösung Kationen. Solche Ionen sind u. a. Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Mn^{3+} , Mn^{4+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Ti^{3+} , Cer^{4+} , Al^{3+} .

35 Die in der Lösung vorhandenen Chelate können darüber hinaus als Mimicsubstanzen für die Enzyme, beispielsweise für die Laccasen (Kupferkomplexe) oder für die Lignin- oder Manganperoxidases (Hämkomplexe) dienen. Unter Mimicsubstanzen sind solche Stoffe zu verstehen, die die prosthetischen Gruppen von (hier) Oxidoreduktasen simulieren und z. B. Oxidationsreaktionen katalysieren können.

Weiterhin kann dem Reaktionsgemisch NaOCl zugesetzt werden. Diese Verbindung kann im Zusammenspiel mit Wasserstoffperoxid Singuletsauerstoff bilden.

40 Schließlich ist es auch möglich, unter Einsatz von Detergentien zu arbeiten. Als solche kommen nicht-ionische, anionische, kationische und amphotere Tenside in Betracht. Die Detergentien können die Penetration der Enzyme und Mediatoren in die Faser verbessern.

Ebenso kann es für die Reaktion förderlich sein, Polysaccharide und/oder Proteine zuzusetzen. Hier sind insbesondere als Polysaccharide Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Pektine, Alginat oder Pflanzengummis und/oder eigene von den Pilzen gebildete oder in der Mischkultur mit Hefen produzierte Polysaccharide und als Proteine Gelantine und Albumin zu nennen. Diese Stoffe dienen hauptsächlich als Schutzkolloide für die Enzyme.

Weitere Proteine, die zugesetzt werden können, sind Proteasen wie Pepsin, Bromelin, Papain usw. Diese können u. a. dazu dienen, durch den Abbau des im Holz vorhandenen Extensins C, eines hydroxyprolinreichen Proteins, einen besseren Zugang zum Lignin zu erreichen.

45 Als weitere Schutzkolloide kommen Aminosäuren, Einfachzucker, Oligomerzucker, PEG-Typen der verschiedensten Molekulargewichte, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und Polydimethylsiloxane in Frage.

Das erfundungsgemäße Verfahren kann nicht nur bei der Delignifizierung (Bleiche) von Sulfat-, Sulfit-, Organosol-, o.a. Zellstoffen und von Holzstoffen eingesetzt werden, sondern auch bei der Herstellung von Zellstoffen oder Holzstoffen (Refinerstoff/Holzschliff) allgemein beispielsweise aus Holz- oder Einjahrespflanzen. Dazu sollte eine Defibrillierung durch die üblichen Kochverfahren und/oder mechanischen Verfahren oder Druck (d. h. eine sehr schonende Behandlung bis zu Kappazahlen im Bereich von > 50 Kappa bzw. > 10% Ligningehalt) gewährleistet sein.

50 Bei der Bleiche von Zellstoffen wie auch bei der Herstellung von Zellstoffen kann die Behandlung mehrfach wiederholt werden, entweder nach Wäsche und Extraktion des behandelten Stoffes mit NaOH oder ohne diese Zwischenschritte. Dies führt zu noch wesentlich weiter reduzierten Kappawerten und zu erheblichen Weißsteigerungen. Ebenso kann vor der Enzym/Mediatorbehandlung eine O_2 -Stufe eingesetzt werden oder auch wie bereits erwähnt eine saure Wäsche oder Q-Stufe (Chelatstufe) ausgeführt werden.

55 Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert:

60

Beispiel 1

Enzymatische Bleiche mit Violursäure und Softwood Sulfatzellstoff

65 5 g atro Zellstoff (Softwood O_2 delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 65 mg Violursäure Monohydrat unter Rühren versetzt, der pH-Wert

DE 196 12 194 A1

Vergleichsbeispiel 1

Enzymatische Bleiche mit 1-Hydroxy-1-H-Benzotriazol und Softwood Sulfatzellstoff

5 5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 0% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 25 mg 1-Hydroxy-1-H-Benzotriazol unter Röhren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge Laccase von Trametes versicolor versetzt, daß eine Aktivität von 35 U (1 U = Umsatz von 1 µmol ABTS/min/ml Enzym) pro g Zellstoff resultiert.

10 Die Lösungen A und B werden zusammengegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneter gemixt.

Danach wird der Stoff in eine auf 45°C vorgeheizte Reaktionsbombe gegeben und unter 1 – 10 bar Sauerstoffüberdruck für 10 bis 40 Minuten inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

15 20 Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt. In Abhängigkeit der Inkubationsdauer werden folgende Delignifizierungsraten erreicht:

Reaktionsdauer [min]	Kappa nach Extraktion	Ligninabbau [%]
0 *	10,40	0,00
10,00	9,70	6,70
20,00	9,30	10,60
30,00	8,90	14,40
40,00	8,50	18,30

40 Ergebnis * bei 0 min (Kappa vor Extraktion)

Vergleichsbeispiel 2

Enzymatische Bleiche mit 1-Hydroxy-1-H-Benzotriazol und Softwood Sulfatzellstoff

45 5 g atro Zellstoff (Softwood O₂ delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 50 mg 1-Hydroxy-1-H-Benzotriazol unter Röhren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H₂SO₄-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 4,5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit der Menge Laccase von Trametes versicolor versetzt, daß eine Aktivität von 35 U (1 U = Umsatz von 1 µmol ABTS/min/ml Enzym) pro g Zellstoff resultiert.

50 Die Lösungen A und B werden zusammengegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneter gemixt.

Danach wird der Stoff in eine auf 45°C vorgeheizte Reaktionsbombe gegeben und unter 1 – 10 bar Sauerstoffüberdruck für 1 – 4 Stunden inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

55 Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

In Abhängigkeit der Inkubationsdauer werden folgende Delignifizierungsraten erreicht:

Reaktionsdauer [h]	Kappa nach Extraktion	Ligninabbau [%]	
0 *	10,40	0,00	5
4	5,60	46,20	

10

Ergebnis * bei 0 min Kappa vor Extraktion

15

Von der eingesetzten Enzymaktivität wurden nach einer Reaktionsdauer von 4 Stunden 15% wiedergefunden.

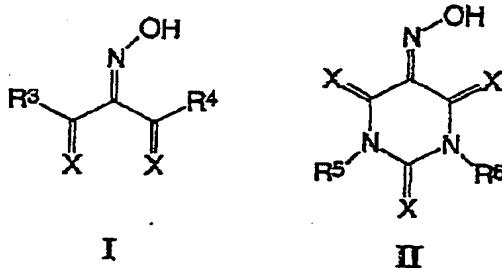
Patentansprüche

20

1. Mehrkomponentensystem zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen enthaltend

- a. ggf. mindestens einen Oxidationskatalysator und
- b. mindestens ein geeignetes Oxidationsmittel und
- c. mindestens einen Mediator, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediator ausgewählt ist aus der Gruppe der Oxime der allgemeinen Formel I oder II

30



35

40

sowie deren Salze, Ether, oder Ester, wobei

X, gleich oder verschieden ist und O, S, oder NR¹ bedeuten wobeiR¹ Wasserstoff-, Hydroxy-, Formyl-, Carbamoyl-, Sulfonorest, Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, Aryl-C₁—C₅-alkyl-, C₁—C₁₂-Alkyl-, C₁—C₅-Alkoxy-, C₁—C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁—C₆-alkyl-, Phospho-, Phosphono-, Phosphonoxyrest, Ester oder Salz des Phosphonoxyrests bedeutet,

45

wobei Carbamoyl-, Sulfamoyl-, Amino- und Phenylreste unsubstituiert oder ein- oder mehrfach mit einem Rest R² substituiert sein können und die Aryl-C₁—C₅-alkyl-, C₁—C₁₂-Alkyl-, C₁—C₅-Alkoxy-, C₁—C₁₀-Carbonyl-, Carbonyl-C₁—C₆-alkyl-Reste gesättigt oder ungesättigt, verzweigt oder unverzweigt sein können und mit einem Rest R² ein- oder mehrfach substituiert sein können wobei

50

R² gleich oder verschieden ist und Hydroxy-, Formyl-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests, Carbamoyl-, Sulfono-Ester oder Salz des Sulfonorests, Sulfamoyl-, Nitro-, Amino-, Phenyl-, C₁—C₅-Alkyl-, C₁—C₅-Alkoxyrest bedeutet und

55

die Reste R³—R⁴ gleich oder verschieden sind und Halogen-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests bedeuten, oder die für R¹ genannten Bedeutungen haben, oder zu einem Ring [-CR⁷R⁸]_n mit n gleich 2, 3 oder 4 verknüpft sind und

55

R⁵ und R⁶ die für R¹ genannten Bedeutungen haben undR⁷ und R⁸ gleich oder verschieden sind und Halogen-, Carboxyrest, Ester oder Salz des Carboxyrests bedeuten, oder die für R¹ genannten Bedeutungen haben.

60

2. Mehrkomponentensystem gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es mindestens einen Oxidationskatalysator umfaßt.

3. Mehrkomponentensystem gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationskatalysator Enzym eingesetzt wird.

65

4. Mehrkomponentensystem gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym Laccase eingesetzt wird.

5. Mehrkomponentensystem gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel Luft, Sauerstoff, Ozon, H₂O₂, organische Peroxide, Persäuren wie die Peressigsäure, Peramei-

sensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxibenzosäure, Perchlorsäure, Perborate, Peracetate, Persulfate, Peroxide oder Sauerstoffspezies und deren Radikale wie OH⁻, OOH⁻; Singulettsauerstoff, Superoxid (O₂^{•-}), Ozonid, Dioxygenyl-Kation (O₂⁺), Dioxirane, Dioxetane oder Fremy Radikale eingesetzt werden.

5. Mehrkomponentensystem gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß als Mediator Verbindungen der allgemeinen Formel I, bei denen X O oder S bedeutet und die übrigen Reste die vorstehend genannten Bedeutungen haben, eingesetzt werden.
6. Mehrkomponentensystem gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Mediator Isonitrosoderivate von cyclischen Ureiden der allgemeinen Formel II eingesetzt werden.
10. Mehrkomponentensystem gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Mediator Alloxan-5-oxim Hydrat (Violursäure) oder dessen Ester, Ether oder Salze eingesetzt werden.
9. Verfahren zum Behandeln von Lignin, dadurch gekennzeichnet, daß man die jeweils ausgewählten Komponenten a) bis c) gemäß Anspruch 1 gleichzeitig oder in beliebiger Reihenfolge mit einer wäßrigen Suspension des ligninhaltigen Materials mischt.
15. Verwendung von Mediatoren gemäß Anspruch 1 zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65